

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОСТАВА ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ НА УДЕРЖИВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПУРИНА И ПИРИМИДИНА В ТСХ

*Трухачева Т.В., Моисеев Д.В., Петров П.Т., Жебентяев А.И.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Введение. Производные пурина и пириимидина применяются в качестве противогерпетических ЛС (ацикловир, валацикловир, ганцикловир, фамцикловир, циклоцитидинмонофосфат), спазмолитических (теобромин, теофиллин, ксантинола никотинат, пентоксифиллин), стимулирующих метаболические процессы (аденозинтрифосфат, рибоксин) и психомоторных (кофеин) [1]. Совершенствование контроля качества ЛС, содержащих производные пурина и пириимидина, является актуальной задачей.

Целью настоящей работы было изучение подвижности производных пурина и пириимидина в зависимости от состава подвижной фазы.

Материалы и методы. Объектами исследования в тонкослойной хроматографии служили вещества, производные пуринов и пириимидинов – метилксантины: кофеин, теобромин, теофиллин, пентоксифиллин, ксантинола никотинат; другие производные пуринов: аденин, аденозин, АТФ, ацикловир, гуанозин, аллопуринол, рибоксин; пириимидины: цитидин, цитозин, ЦМФ, α ЦМФ, циклоцитидин. Исходные растворы анализируемых веществ готовили путем растворения навесок препаратов в воде очищенной. Концентрации веществ в используемых растворах составляли 1-2 мг/мл. Данные стандартные растворы хранили в течение 1 месяца при температуре 0-4°C.

Для разделения использовали пластины заводского производства с закрепленным слоем силикагеля, флуоресцирующие в ультрафиолетовом спектре: «Сорбфил ПТСХ П-В-УФ» (Россия). Разделение проводили в закрытой хроматографической камере размером 15,0×10,0×5,0 см. Высота подъема фронта растворителя составляла 9 см («Сорбфил») при комнатной температуре (20±2°C). Насыщение камеры проводили в течение 30 мин. Пластину погружали в подвижную фазу (ПФ) на 0,5 см.

Органические растворители (квалификации «ч.д.а.» или «х.ч.») перед использованием очищали перегонкой. Неорганические соли и кислоты, используемые для приготовления ПФ, были квалификации «ч.д.а.». ПФ готовили путем смешивания соответствующих объемов водного раствора соли с органическим растворителем.

Результаты и их обсуждение. Элюирующая сила подвижной фазы в хроматографии определяется не только природой растворителя, но и механизмом разделения на сорбенте [2,3]. В общем случае элюирующая сила бинарных и многокомпонентных растворителей лежит в интервале соответствующих значений чистых компонентов. В то же время, элюирующая сила смешанного растворителя неаддитивно меняется в зависимости от объемной доли модификатора. Добавление даже незначительного объема полярного модификатора к ПФ приводит к резкому увеличению элюирующей силы. При дальнейшем добавлении модификатора увеличение элюирующей силы ПФ происходит более монотонно. При этом соблюдается тенденция – чем больше элюирующая сила модификатора, тем резче и выше скачок элюирующей способности при его добавлении к менее полярному растворителю. Нами изучалась зависимость подвижности производных пурина и пиримидина на силикагеле при добавлении к слабополярному растворителю (ацетон) полярного модификатора (вода). Для обработки полученных результатов применяли модель, предложенную Сочевинским, рассматривающую процессы удерживания при использовании бинарных смесей растворителей. В ней предполагается наличие отдельных адсорбционных центров на поверхности сорбента, покрытых более полярным компонентом. Данная модель описывается уравнением:

$$\lg k' = a + b \cdot \lg N_b \quad (1);$$

где k' – коэффициент емкости сорбента по отношению к веществу, равный $(1-R_f)/R_f$, т.е. соотношение количества образца в НФ с количеством образца в ПФ при равновесии;

N_b – мольная доля более полярного компонента ПФ;

a и b – постоянные, характеризующие компоненты растворителя.

После обработки данных оказалось, что уравнение 1 соблюдается в диапазоне концентрации полярного модификатора 1-50% (мольная доля 0,040-0,803), коэффициент корреляции для большинства соединений превышает 0,95. Исключение составляют сильнополярные вещества – АТФ и ЦМФ, для которых не удастся описать механизм удерживания с помощью данной модели.

Для веществ с полярными функциональными группами (производные пурина и пиримидина) характерны специфические взаимодействия с сорбентом [4]. Величина pH влияет на хроматографирование веществ, способных существовать как в протонированной, так и в непротонированной форме. В эксперименте нами было изучено влияние pH (в диапазоне от 1,5 до 11) подвижной фазы (0,05 М раствор гидро-

фосфата натрия до нужного значения pH доводили ортофосфорной кислотой или гидроксидом натрия) на подвижность производных пурина и пиримидина (аденин, аденозин, аллопуринол, ацикловир, кофеин, теобромин, теофиллин, цитидин, цитозин). Полученные результаты позволяют сделать вывод, что за счет изменения значения pH подвижной фазы возможно изменение подвижности веществ на 5-10%, что делает возможным разделение веществ со схожей структурой.

Выводы. Изученные зависимости подвижности производных пурина и пиримидина от содержания и природы полярного компонента, значения pH подвижной фазы в ТСХ позволили разработать методики анализа цЦМФ и его примесей в субстанции и лекарственных формах.

Литература:

1. Лекарственные препараты в России: Справочник Видаль – М.: АстраФармСервис, 1999 – 1520 с.
2. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография) в 2 т./ Ф. Гейсс Пер с англ. Кошевич М.А., Лапина Б.П./ Под ред. проф. В.Г. Березкина. – М.: Химия, 1986. – 704 с.
3. Саколынский К.И., Бражников В.В., Волков С.А. и др. Аналитическая хроматография. – М.: Химия, 1993. – 464 с.
4. Справочник биохимика / Досон Р., Элиот Д., Элиот У., Джонс К. Пер с англ. Друцы В.Л., Королевой О.Н. – М.: Мир, 1991. – 544 с.